Ueber

die Vergärung von gezuckerter kondensierter Milch und deren hygienische Bedeutung

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

Von

Fritz Schaeffer
aus Berlin

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der Promotion: 28. Juli 1919

Emil Ebering, Berlin NW 7, Mittelstraße 29

79

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. **His**

Referent: Prof. Dr. **Flügge**

Meinem Vater

Die Konservierung von Nahrungsmitteln hat im Laufe der letzten Jahrzehnte erhebliche Fortschritte gemacht. Die stetige Abwanderung von Landbevölkerung in die großen Städte, der wachsende internationale Austausch von Nahrungsmitteln, die Versorgung von Kolonien, weite Seereisen, militärische Interessen u. a. nötigten mehr als früher zu langdauernder Stapelung auch empfindlicher Lebensmittel. Unerläßliche Vorbedingung hierfür war aber eine gründliche Kenntnis von den Ursachen der Nahrungsmittel-Verderbnis. Dieses Fundament verdanken wir der bakteriologischen Forschung. Wie sich ergab, ist in den meisten Fällen die Verderbnis der Nahrungsmittel durch Mikroorganismen bedingt, die teils am Rohmaterial haften, teils bei seiner Verarbeitung und Lagerung hinzutreten, unter geeigneten Bedingungen wuchern und dabei die Nahrungsmittel ungenießbar oder gar gesundheitsschädlich machen. Erst diese Erkenntnis eröffnete die Wege zur Bearbeitung wissenschaftlich begründeter Konservierungsverfahren. Letztere können zweierlei Ziele verfolgen: Entweder die Abtötung der Keime, die „Sterilisierung", oder nur die Verhinderung ihres Wachstums, die „Entwicklungshemmung". Zur Sterilisierung benutzt man zumeist starke Hitze. Da aber zur Abtötung aller, auch der widerstandsfähigsten, Mikroorganismen, zur „totalen" Sterilisierung, sehr hohe Temperaturen längere Zeit einwirken müssen, wodurch die Nahrungsmittel in Aussehen, Struktur, Geruch und Geschmack allzu stark verändert werden, so begnügt man sich in vielen Fällen mit der Abtötung der

weniger widerstandsfähigen Keime durch schwächere und kürzere Erhitzung („partielle" Sterilisierung) und verhindert das Wachstum der überlebenden durch Kälte, Konzentrationserhöhung (Wasserentziehung bzw. Zusatz wasserlöslicher Stoffe), antiseptische Mittel. Für die Zwecke der Konzentrationserhöhung spielt der Zucker eine wichtige Rolle.

Daß starke Zuckerlösungen fäulnisfähiges Material vor der Verderbnis schützen, ist schon lange bekannt. So benutzte man schon im klassischen Altertum Honig zu Konservierungszwecken, an dessen Stelle später der Zucker trat, der dann namentlich zur Konservierung von Früchten weiteste Anwendung fand.

In neuerer Zeit hat man den Zucker auch zur Konservierung von Milch benutzt. Die längere Erhaltung dieses höchst empfindlichen Nahrungsmittes bereitet ganz besondere Schwierigkeiten. Versucht man Milch durch Kochen von ihren, stets sehr zahlreichen und z. T. sehr widerstandsfähigen, Keimen zu befreien, so kommt man erst nach mehreren Stunden zum Ziel, im Laufe derer die Milch braun wird und tiefgehende Veränderungen erleidet. Schneller, schon in 10—30 Minuten, und mit geringerer Beeinträchtigung der Milch gewinnt man eine keimfreie Konserve durch Erhitzen auf etwa 120—125 Grad in geschlossenen Blechdosen; doch ist auch gegen diese Milch, namentlich für die Zwecke der Kinderernährung, der Einwand der zu starken chemischen Veränderung (Verlust von Vitaminen usw.) erhoben worden. Andere, schonendere Arten der Hitzeanwendung zur Erzielung einer keimfreien Milch sind vor der Hand nicht bekannt.

Außer der Sterilisierung durch Hitze hat man Milch namentlich noch in der Richtung zu bearbeiten versucht, daß ihr Wasser entzogen und ein für den Transport günstigeres und kleineres Volum gegeben wurde. Die fabrikmäßige Herstellung eines solchen Präparats erfolgte um die

Mitte des vorigen Jahrhunderts in Nordamerika, fand von da Eingang in die Schweiz und verbreitete sich alsdann in kurzer Zeit in zahlreichen europäischen Ländern.

Diese „kondensierte, sterilisierte" Milch war aber noch immer ein insofern empfindliches Präparat, als sie sich zwar in den geschlossenen Büchsen lange erhielt, nach deren Oeffnung aber schnell verbraucht werden mußte. Man kam daher sehr bald auf den Gedanken, die Haltbarkeit der eingedickten Milch noch durch Zusatz von Rohrzucker zu erhöhen. Wurde zu der kondensierten Milch noch Rohrzucker im Verhältnis von zirka 40 Prozent hinzugefügt, so ergab sich ein praktisch unbegrenzt haltbares Präparat, ja es war sogar möglich, eine geöffnete Büchse tagelang offen stehen und mit Bakterien verschiedenster Art in Berührung kommen zu lassen, ohne ihre Verderbnis befürchten zu müssen. Damit war ein allerdings sehr süßes, aber dauernd haltbares Präparat geschaffen, das in Haushaltungen, Kaffeehäusern u. s. w. gelegentlich gern verwendet wurde.

In Amerika wurde solche gezuckerte kondensierte Milch in besonders großem Maßstabe hergestellt und verwendet. Dort hat man auch zuerst über vereinzelte weniger günstige Erfahrungen berichtet, die kürzlich von Hunziker,[1] Professor der Milchwirtschaft und Vorsteher der landwirtschaftlichen Untersuchungsstation des Staates Indiana, in einer Monographie zusammengefaßt sind.

Danach kommen auch bei der gezuckerten kondensierten Milch Fehler mannigfacher Art vor, von denen die folgenden besonders häufig sind:

Durch kristallinische oder mehr amorphe Ausschei-

1. O. F. Hunziker; Condensed milk and milk powder. La Fayette, Indiana 1914.

dung von Milchzucker, der in den Konserven in übersättigter Lösung vorhanden ist und nur durch einen gewissen Viskositätsgrad am Ausfallen verhindert wird, kann ein zwischen den Zähnen knirschendes, körniges oder stark sedimentiertes Präparat entstehen, das zwar gesundheitlich unbedenklich, aber nicht mehr marktfähig ist.

Ein weiterer Fehler ist das Dick- und Käsigwerden der Milch, das Hunziker auf säurefreie Fermentation durch labbildende Bakterien zurückführt, die besonders im Frühsommer und bei wenig sorgfältiger Stallhygiene die Milch stark verunreinigen und nur durch genaue Innehaltung recht hoher Rohrzuckerzusätze (mindestens 45 Prozent) in ihrem Wachstum aufgehalten, nicht aber völlig gehindert werden. Auf alle Fälle sei es daher ratsam, die im Sommer hergestellten Präparate möglichst schnell zu verkaufen. Ja, Hunziker sieht sich sogar zu der Erklärung veranlaßt, daß mit höherem Alter j e d e gezuckerte kondensierte Milch Neigung bekommt, dick zu werden, daß höhere Temperaturen diese Vorgänge begünstigen und daher die fertigen Präparate unter 15,5 Grad Celsius gelagert werden müssen.

Ein dritter Fehler liegt in der Bildung feinerer oder gröberer Gerinnsel infolge von Säuerung, die entweder schon in der „Frischmilch" einen zu hohen Grad gehabt hat oder infolge starker, im Stall oder Fabrikbetrieb untergelaufener, Verunreinigungen mit widerstandsfähigen Mikroorganismen bei längerer Aufbewahrung eintritt.

Der häufigste und folgenschwerste Fehler aber ist nach Hunziker die Entwicklung von G a s in der Milch, oft in solchem Maße, daß die Deckel der Büchsen aufgetrieben, ja manchmal zum Platzen gebracht werden. Häufig, wenn auch nicht immer, ist die Gärung von Säuerung und Klumpenbildung begleitet.

„Die vergorene Milch ist durchaus unverwertbar und bedeutet einen völligen Verlust für den Fabrikanten, was

um so unangenehmer ist, als die Störung meist nicht gleich erkannt wird, sondern sich erst nach mehreren Wochen entwickelt, so daß sehr große Mengen kondensierter Milch hergestellt sind, bevor der Verderb erkannt wird. Manchmal ist der ganze Sud verdorben, während in anderen Fällen nur ein Teil der Dosen, manchmal nur ganz wenige aufgetrieben sind."

Ueber die Ursachen dieser Gärungsvorgänge äußert sich Hunziker folgendermaßen:

„In den meisten Fällen ist dieser Verderb auf eine Verunreinigung der Milch auf dem Gehöft oder in der Fabrik mit besonderen Mikroorganismen zurückzuführen, welche trotz der schützenden Wirkung des Rohrzuckers noch Gärung veranlassen können. Während die meisten Mikroorganismen die gezuckerte kondensierte Milch nicht in Gärung zu versetzen imstande sind, gibt es einige Arten von Bakterien und Hefen, welche durch die hohe Zuckerkonzentration nicht gehindert werden. Es handelt sich gewöhnlich um Mikroorganismen, welche imstande sind, den Zucker zu invertieren. Dies vermögen namentlich Hefen, die zunächst den Rohrzucker umwandeln und dann Alkohol und Kohlensäure erzeugen. Da die Invertierung der Gärung vorausgehen muß, zieht sich der Prozeß länger hin und wird meist erst nach Wochen deutlich.

In den meisten Fällen handelt es sich um Hefen. Die Quelle der Verunreinigung liegt gewöhnlich nicht im Gehöft, weil die Hefezellen, selbst wenn sie Sporen gebildet haben, durch die Erwärmung, welche die Milch bei der Fabrikation durchmachen muß, abgetötet werden. Sie vertragen höchstens 82 Grad Celsius. Wenn daher die ganze Milch auf 88 Grad erwärmt wird, wie es meistens geschieht, so bleiben diese Hefen nicht mehr gefährlich. Ist dagegen die Erhitzung auch nur für einen Teil der Milch ungenügend, dann kann auch solche Hefe am Leben bleiben."

In Deutschland war bis zum Beginn des Krieges von einem Verderben gezuckerter kondensierter Milch wenig bekannt. Hunzikers Monographie erschien im Jahre 1914 und fand in Deutschland bisher kaum Eingang, was z. T. wohl dadurch bedingt ist, daß in Deutschland früher nur ausnahmsweise von kondensierter gezuckerter Milch Gebrauch gemacht wurde. Als aber im Kriege die Lieferung frischer Milch auf immer steigende Schwierigkeiten stieß, wurde zum ersten Male gezuckerte kondensierte Magermilch zu einem begehrten Artikel. Früher wurde höchstens Vollmilch unter Zuckerzusatz eingedickt und als Zusatz zu Tee und Kaffee verwendet. In der Kriegszeit durfte Vollmilch überhaupt nicht mehr sterilisiert oder kondensiert verkauft werden, sondern nur die von der Butterbereitung übrig bleibende Magermilch. Auch das Kondensat solcher Milch wurde aber in der Kriegszeit gern gekauft, da ein süßender und zugleich Farbe und Geschmack von Milch liefernder Zusatz zu den Ersatzgetränken von Tee und Kaffee sehr willkommen war.

In einer Fabrik in Ostpreußen, die solche kondensierte Magermilch herstellte, wurde nun eines Tages ein starker Verderb des vorschriftsmäßig hergestellten Präparats beobachtet. Tausende einem gleichzeitig hergestellten Sude zugehörige Dosen zeigten Auftreibung, Vorwölbung des Deckels, offenbar als Folge eines im Innern herrschenden Ueberdrucks. Diese Auftreibung war z. T. so stark, daß an einigen Büchsen der Inhalt herausgetreten war, ja daß sogar zahlreiche Dosen und ganze Kisten durch das angesammelte Gas gesprengt worden waren. Von der Zentral-Einkaufs-Gesellschaft, der die Milch zum Verkauf angeboten war, war daraufhin die Abnahme der gesamten Lieferung abgelehnt worden.

Zur Aufklärung dieses volkswirtschaftlich und hygienisch interessierenden Verderbs wurden dem hiesigen

hygienischen Institut einige der aufgetriebenen Dosen zur Untersuchung zugeschickt. Vorerst wurde eine genauere Orientierung über das bei der Herstellung des Präparats eingehaltene Verfahren versucht. Nach Angaben in der Literatur geschieht die Herstellung folgendermaßen: Die Magermilch wird einige Zeit auf 70—80 Grad im Vorwärmer erwärmt, in einem besonderen, mit Rührer versehenen Behälter mit gut raffiniertem Rohrzucker im Verhältnis von 12—18 Gewichtsteilen auf 100 Gewichtsteile Frischmilch gemischt, und hierauf in die „Vacuumpfanne" hineingesogen, eine durch Heizschlangen erwärmte Retorte, in der mittels Luftpumpe ein Vacuum von etwa 650 mm Quecksilber hergestellt ist. Bei diesem geringen Druck siedet die Milch bereits bei 65 Grad und dickt sich in kurzer Zeit bis zu der gewünschten Konzentration, von 2½ bis 3½ Teilen auf ein Teil, ein. Das Kondensat wird alsdann in Kühlbottiche abgelassen und nach der Abkühlung in Blechbüchsen abgefüllt, die mit Falzdeckel geschlossen werden.

Die so hergestellte Milch stellt eine weißliche, zuweilen schwach ins Gelbliche spielende Masse dar, von der Zähflüssigkeit eines dünnen Breies und von stark süßem Geschmack. Ihr spezifisches Gewicht beträgt 1,28 bis 1,30, ihr Gehalt an Rohrzucker im Mittel etwa 40 Prozent, Milchzucker 14 Prozent, Stickstoffsubstanzen 12 Prozent, Fett 10 Prozent, Wasser 26 Prozent.

Die Untersuchung der eingesandten Milchbüchsen ergab nach Aufzeichnungen von Prof. Dr. Heymann folgendes:

Nach sorgfältiger Sterilisierung des Deckels wurde derselbe mit einem sterilisierten Büchsenöffner aufgeschnitttten. Hierbei entwich ein aromatisch riechendes Gas. Der Inhalt der Büchsen wies mikroskopisch keine Abnormitäten auf. Nur bei einer besonders aufgetriebenen Büchse (No. 628), bei der sogar ein Teil des Inhalts herausgetreten war, war die Milch von Gasblasen durchsetzt und

bildete z. T. gekochtem Reis ähnliche Klumpen. Von diesem Inhalt wurden Agar- und Gelatine-Gußplatten angelegt. Nach etwa 48 stündigem Aufenthalt bei 22 bzw. 37 Grad zeigten sich zwar Kolonien, aber in unerwartet geringer Anzahl. Es handelte sich um Gelatine verflüssigende Kokken, Sarcine, Bacillus subtilis, diphtheroide Stäbchen und rosa Hefe. Dieses wenig befriedigende Ergebnis erfuhr sehr bald seine Erklärung und Berichtigung. Gleichzeitig mit den Platten war eine gewisse Menge Milch aus der Büchse 628 mit gleichen Teilen Wassers versetzt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen worden. Nach zwei Tagen befand sich die Flüssigkeit in mächtiger Gärung, hatte eine hohe Schaumschicht und stark alkoholischen, aromatischen Geruch. Im mikroskopischen Präparat fanden sich massenhaft Hefen, die auf zuckerfreier Gelatine- oder Agarplatte nicht aufgingen. Kulturen auf Bierwürze-Agar ergaben 2 verschiedene Arten: 1. eine in weißen, ziemlich großen, feuchtglänzenden Kolonien wachsende („Hefe feucht"), die aus schönen runden Zellen bestand, 2. eine, die in trockenen, mattweißen, flachen Kolonien wuchs, („Hefe trocken") und mehr elliptische, spitzere Formen aufwies. Das Wachstum ging bei beiden bei zirka 37 Grad besser von statten als bei 28 oder 22 Grad. Nach späteren Versuchen liegt das Optimum bei zirka 34 Grad.

Es fragte sich nunmehr, ob diese Hefen in ursächlichem Zusammenhange mit den Gärungsvorgängen stünden. Um dies zu prüfen, wurde zunächst ihr Wachstum in starken Zuckerlösungen untersucht. Bouillon mit je 10, 20, 30 usw. bis 80 g Rohrzucker zu 100 ccm Flüssigkeit wurde in Röhrchen abgefüllt, mit „Hefe feucht" und „trocken" beimpft, und bei 37 Grad gehalten. Schon nach 12 Stunden zeigten alle mit „Hefe feucht" beimpften Röhrchen starke Trübung und Gärung, die besonders durch starke Schaumbildung

in Erscheinung trat; nach 3 Tagen hörte die Schaumbildung auf, dafür hatte sich jetzt ein dickes, flockig bröckliges Sediment abgesetzt, das sich mit zunehmendem Gehalt an Rohrzucker verringerte. Die mit „Hefe trocken" beimpften Röhrchen weisen im Gegensatz hierzu keine Gärung auf, jedoch bildet sich auch bei ihnen, besonders bei den niedrigeren Konzentrationen, ein überaus reichliches Sediment, das gleichfalls in dem Maße der Steigerung des Rohrzuckergehaltes abnimmt und bei den Röhrchen mit 80 g Zucker auf 100 kaum mehr wahrnehmbar ist. Nach dieser Feststellung, daß Rohrzuckerlösungen von 80 g Zucker zu 100 ccm Bouillon noch starkes Wachstum und Vergärung durch „Hefe feucht" zulassen, wurden nunmehr mit dieser Hefe Zuckerlösungen beimpft, deren Konzentration einer Menge von 75, 100, 125 und mehr Gramm Rohrzucker, hinzugefügt zu je 100 ccm Bouillon, entsprach. Die höchste Konzentration, bei der noch Wachstum und eine geringe Gärung beobachtet wurde, war die von 150 zu 100; die noch höher prozentigen Lösungen blieben unverändert. Die „Hefe feucht" war also imstande, noch bei 60 Prozent Rohrzuckergehalt des Nährsubstrats zu wuchern und in geringem Grade Gärung hervorzurufen.

Daß es Hefen gibt, die bei so hohen Konzentrationen wachstumsfähig bleiben und Gärung auslösen, ist auch von anderer Seite bekannt gegeben. So trat nach Henneberg[1] in Zuckerlösungen von 60 Prozent abwärts bei einer Reihe Brauerei- und Weinhefen meist Gärung ein, während bei 70 Prozent trotz sonst günstigen Wachstumsbedingungen keine einzige mehr vergor. Nach Kohl[2] erreicht die Gärung zwar zwischen 30 und 40 Prozent Zuckergehalt zumeist ihren Höhepunkt, erlischt aber in vielen Fällen auch

1. Gärungsbakteriologisches Praktikum, Berlin 1909.
2. Die Hefepilze, Leipzig 1908.

bei 60 Prozent nicht völlig. Von einer höchst gärfähigen Hefe berichtet Hunziker;[3] sie vergor noch eine Nährlösung von 600 g Rohrzucker in 100 g Molken-Bouillon, d. h. 85 prozentige Zuckerlösung.

Von Interesse war weiterhin die Frage der Widerstandsfähigkeit der „Hefe feucht" gegen höhere Temperatur. Die betr. Versuche wurden folgendermaßen angestellt. Je eine Oese einer mehrere Tage alten Reinkultur von „Hefe feucht" wurde in Röhrchen mit je 7 ccm Zuckerbouillon von optimaler Konzentration (20 Prozent Rohrzucker und 10 Prozent Milchzucker) eingebracht und verschieden lange in Wasserbädern von verschieden hoher Temperatur (55 bis 70 Grad) gehalten. Es ergab sich, daß erst eine einstündige Erhitzung auf 67 Grad zur sicheren Abtötung genügte. Die „Hefe feucht" erreichte damit eine bisher noch nicht bei Hefen beobachtete Wärmeresistenz. Die höchste, von der ich in der Literatur berichtet fand, wurde beobachtet gegenüber einer nur 15 Minuten dauernden Erhitzung auf 65 Grad und betraf eine Hefe, die E. Freudenreich und O. Jensen aus saurer Molke isoliert hatten. Bei einer Reihe von Lindner untersuchter Hefearten war die maximale Hitzeresistenz diejenige gegenüber einer 5 Minuten langen Einwirkung von 63 Grad.

Von weiteren Eigenschaften der „Hefe feucht" sei noch erwähnt, daß in älteren Kulturen Sporen auftraten, und daß auch Milchzucker, zwar nicht so lebhaft wie Rohrzucker, so doch noch in Lösungen von 20 g auf 100 Bouillon vergoren wurde.

Eingehendere Untersuchungen über diese Hefe, die von Herrn Prof. Dr. Lindner vom hiesigen Institut für Gärungsgewerbe ausgeführt wurden, bestätigten insbesondere

3. a. a. O., Seite 160.

die hohe Wärmeresistenz und die Sporenbildung, die sogar unter geeigneten Bedingungen sehr umfangreich sein konnte. So wiesen nach 72 stündigem Wachstum in 25-prozentiger Zucker-Nährlösung etwa 60 Prozent aller Hefezellen Sporen auf. Hinsichtlich der Gärfähigkeit der „Hefe feucht" gegenüber verschiedenen Zuckerarten wurde festgestellt, daß nach 24 Stunden Rohrzucker, Fruchtzucker und Mannose zu $^1/_5$, Traubenzucker zu $^1/_4$ vergoren wurde.

Zur Prüfung der praktischen Bedeutung dieses eigentümlichen Lebewesens für die Verderbnis der kondensierten Milch war es zunächst von Wichtigkeit, über seine Herkunft Aufklärung zu erhalten.

E n t w e d e r konnten die Hefen aus der M i l c h stammen und vermöge ihrer widerstandsfähigen Sporen die Erhitzung der Milch beim Eindicken, wo entschieden nicht alle Teile der Milch einer sicher keimtötenden Hitzeeinwirkung ausgesetzt werden, überdauern. O d e r aber die Hefen gelangten erst n a c h dem Kondensieren aus den Kühl- und Abfüllgefäßen, oder aus den Dosen, dem Wasser, der Luft usw. in die Milch.

Der auffällige Umstand, daß der Verderb mehrfach gerade im Sommer beobachtet wurde, ließ an die Möglichkeit denken, daß die Hefe erst im Frühjahr und Frühsommer in der Natur in größerer Verbreitung vorkommt, vielleicht z. B. von blühenden Gramineen oder dgl. aus in die Milch bzw. auf die nachträglich mit der Milch in Berührung kommenden Gegenstände gerät.

Zur Klärung dieser Frage war zunächst zu untersuchen, ob und in welcher Häufigkeit derartige Hefen einerseits in Milch und andererseits an Gegenständen, die bei ihrer Verarbeitung mit ihr in Berührung kommen, vorkommen und ob sie vielleicht auch in fehlerfreien Büchsen kondensierter Milch zu finden sind. Für diese Untersuchungen wurde ein besonderer elektiver Nährboden für die betreffenden Hefen

hergestellt, der zu 1000 g Wasser 50 g Malzextrakt, 600 g Rohrzucker und 1,5 g Weinsäure, außerdem 10 g Fleischextrakt, 5 g Kochsalz und 60 g Agar enthielt und der das Wachstum der meisten anderen Bakterien, wie Staphylo- und Streptokokken, Coli- und Heubazillen und Sarcinen nicht gestattete. Die Anwesenheit selbst geringer Mengen der Hefe neben beliebig zahlreichen anderen Bakterien mußte sich durch diesen besonderen Nährboden erkennen lassen.

Unter diesem Gesichtspunkt wurden zunächst Proben von allem Material entnommen, das nachträglich mit der eingedickten Milch in Berührung kommt und auf die erwähnten Spezialnährböden verimpft. Hierbei wurden keine Hefen gefunden. Auch in Proben, die von verschiedenen Teilen der Apparatur entnommen waren, konnten Hefen nicht entdeckt werden. Wohl aber wurden solche gefunden in einer von der Fabrik eingesandten Probe „gezuckerte Milch vor dem Kondensieren", ebenso auch in feuchtem Zucker, der bei der Fabrikation verarbeitet werden sollte, hier zusammen mit Schimmelpilzen.

Um häufiger den Gehalt der Milch an Hefen festzustellen, bevor sie zur Verarbeitung gelangt, wurde in der Fabrik Butter hergestellt; in diese gehen erfahrungsgemäß die Hefen leicht über, andererseits findet in ihr eine nachträgliche zu starke Vermehrung der Keime und eine völlige Zersetzung des Substrats wie sie bei Milchproben während des langdauernden Transports nicht zu vermeiden gewesen wäre, nicht statt. Sowohl in den Butterproben aus der Fabrik, ebenso auch in verschiedenen anderen Proben (z. B. von der Butterstelle des Magistrats Berlin) wurden teils sehr reichlich, teils weniger Hefen gefunden, deren Identität mit den in Frage kommenden Gärungserregern allerdings nicht immer mit Sicherheit festzustellen war. Im Frühsommer begann die Zahl der in der Butter gefundenen

Hefen bedeutend zu steigen. Doch kamen auch in einer solchen Periode Sendungen vor, die nur vereinzelte Hefen aufwiesen. Auch in der gewöhnlichen Milch des Handels wurden mit Hilfe des benutzten Spezialnährbodens Hefen gefunden. — Diese Untersuchungen bestätigen in vollem Maße die in der Literatur über das Vorkommen von Hefen gemachten Angaben; so gibt z. B. Kirchner an, daß milchzuckervergärende Hefen, die kräftige Alkoholbildner sind, schon wiederholt in saurer Milch, in Butter und Käse angetroffen sind. Das Hineingelangen in die Milch kann leicht im Stall erfolgen, wo z. B. im Streumaterial nach Weigmann häufig sogenannte „wilde" Hefen vorkommen.

Somit war anzunehmen, daß im vorliegenden Falle die Hefe der ursprünglichen Milch vor ihrer Verarbeitung entstammte. Nach Hunziker sollen auch während der fabrikmäßigen Verarbeitung der Milch aus Teilen der Apparatur Hefen in die Milch gelangen können. Hunziker schreibt hierüber folgendes: „In das untere Ende des Zufuhrrohrs z. B., durch das der Zucker in die Milch eingebracht wird, dringen leicht Dämpfe vor, und der Zucker bildet dort eine Kruste, die eine Brutstätte für Hefen und andere Mikroorganismen darstellt. Von dieser Kruste können Teile in die Milch fallen, während sie am Ende der Verarbeitung ist, und dann am Leben bleiben. Ebenso können in Milchresten, in der Vacuumpfanne und an anderen Stellen der Apparatur Gärungserreger sich ansiedeln und von dort aus die Milch immer von neuem infizieren. Zur Verhütung unliebsamer Vorkommnisse, also besonders der späteren Vergärung der kondensierten Milch, ist daher die größte Aufmerksamkeit auf verdächtige Unreinlichkeiten und dauernde Kontrolle aller Teile des Apparats dringend geboten. Die Einsaat der Hefen kann auch durch den Zucker selbst geschehen, besonders wenn dieser der Feuchtigkeit oder einer Verunreinigung durch Fliegen ausgesetzt war."

Ueber die Bildung solcher Infektionsherde in der Apparatur ist mir nichts bekannt geworden. Ich möchte die Wucherung von Hefen in den beschriebenen Zuckerkrusten von vornherein für nicht wahrscheinlich halten.

Anscheinend werden die in die Milch gelangten Hefen meistens trotz reichlicher Einsaat und trotz ihrer großen Hitzeresistenz im Koch- und Eindampfkessel vollständig abgetötet. Zuweilen wird eine sehr kleine Zahl von Hefen die Erhitzung überstehen, und dann wird beim Abfüllen nicht jede Dose lebende Zellen gärfähiger Hefe enthalten, sondern nur ein größerer oder geringerer Teil der Dosen später Verderb zeigen. — Ferner wird die Schnelligkeit der Ausbildung einer Gärung stark beeinflußt werden durch die Z a h l der überlebenden Hefen. Auch ist es wohl möglich, daß verschiedene Portionen des gleichen Sudes sich in bezug auf Keimgehalt ungleich verhalten, weil Erhitzungsdauer und Erhitzungsgrad während des ganzen Prozesses Schwankungen unterliegen.

Daß auch die Wucherungsbedingungen des Substrats bestimmend für die Entwicklung einer Gärung durch überlebende Hefen sein können, ist von vornherein zuzugeben. Hunziker schreibt darüber: „Auch die Qualität des Zuckers ist von Bedeutung; Zucker geringerer Qualität enthält oft Traubenzucker oder auch Invertzucker; bei Anwesenheit dieser Zuckerarten in der kondensierten Milch können die normaler Weise in der Milch vorhandenen Keime, die reinen Rohrzucker wegen ihrer Unfähigkeit, Diastase zu erzeugen, nicht angreifen können, aktiv werden und Gärung hervorrufen. Verwendung nur best raffinierten Rohrzuckers ist darum gleichfalls eine wichtige Vorbeugungsmaßnahme. Die verhängnisvolle Inversion des Rohrzuckers kann auch durch einen hohen Säuregehalt der zur Verarbeitung kommenden Milch verursacht werden, besonders bei den zur Anwendung gelangenden hohen Temperaturen.

Auf möglichst geringen Säuregehalt der zu kondensierenden Milch ist also gleichfalls zu achten."

Die Bedeutung des richtigen Konzentrationsgrads bzw. eines erhöhten Zuckergehalts hält Hunziker für gering. Man könnte, wie er schreibt, daran denken, den Zuckergehalt noch über das übliche Maß von 40 Prozent zu steigern, um die Milch besser gegen die Wucherung von Mikroben zu schützen. Zweifellos sei es nicht gut, unter 40 Prozent herunterzugehen, andererseits würde eine Erhöhung des Prozentgehalts kostspielig sein, zu anderen Fehlern Anlaß geben und doch keinen sicheren Schutz gewähren, da z. B. (wie schon oben erwähnt) eine von ihm herausgezüchtete Hefe sogar noch bei einem Rohrzuckergehalt von 85 Prozent lebhaft Gas bildete."

Daß die Steigerung des Zuckergehalts über 40 Prozent bedenklich ist, weil sonst leicht nachträgliche Ausscheidung des Zuckers in kleinen Kristallen oder in größeren Depots erfolgt, ist zweifellos richtig. Ob im übrigen dem Konzentrationsgrad eine gewisse Bedeutung für die Möglichkeit einer Vergärung zukommt, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. „Konzentrationsgrad" ist allerdings insofern keine zutreffende Bezeichnung, als es dabei nicht auf die durch das spezifische Gewicht gemessene Konzentration ankommt. Das im Pyknometer bestimmte spezifische Gewicht habe ich in zahlreichen Dosen stets nur wenig schwankend gefunden, im Mittel betrug es immer 1,350. Dagegen war die Konsistenz oder besser Viskosität sehr verschieden. Manchmal war das Präparat sehr dünnflüssig, einige Male geleeartig und von fast breiiger Konsistenz; meistens homogen, nicht selten aber sehr ungleichmäßig, so daß ein festerer Klumpen, der sich erst durch längeres Rühren verteilen ließ, den Boden bedeckte. Die Säuregrade erhoben sich in solchen Fällen nicht über die übliche Grenze.

Die teilweise oder durch die ganze Masse sich er-

streckende dickere Konsistenz rührt daher offenbar nicht her von stärkerer Eindickung, sondern von einer Veränderung des Quellungszustandes des Kaseïns, bzw. von dessen Umwandlung in Parakaseïn durch Labferment, das von Bakterien der Milch geliefert ist.

Auch diese Labgerinnung bzw. deren Vorstufe, durch welche die Verwendbarkeit des Präparats keineswegs gestört wird, ist möglicherweise nicht ganz belanglos für die Entwicklung einer Gärung, und teilweise Klumpenbildung kann vielleicht in einzelnen Teilen des Suds bzw. des Dosenінhalts eine Wucherung der Hefen begünstigen bzw. beeinträchtigen.

Auch daran läßt sich denken, daß sich bei unvollständiger Füllung der Dosen kleine Lufträume bilden, in denen gelegentlich Kondensation von Wasserdampf stattfindet und wo es dadurch zur Ausbildung eines minimalen Herdes von Nährsubstrat mit niedrigerem Zuckergehalt kommt, der genügt, um eine erste Wucherung vorhandener Keime zu gestatten. — Ferner werden Spuren von Invertzucker, die sich in Milch mit etwas höheren Säuregraden bilden, in ähnlicher Weise erste Wucherungen gestatten.

Die Beschaffenheit des Substrats, namentlich den Gehalt der zur Verarbeitung gelangenden Milch an labbildenden Bakterien und an Säurebildnern möchte ich daher nicht als völlig gleichgültig ansehen; sie vermögen vielleicht die in starken Zuckerlösungen lebensfähigen Hefen, sobald diese die bei der Fabrikation angewendete Hitze überstanden haben, in ihrer Wucherung und in der Entfaltung ihrer Tätigkeit zu unterstützen. Wiederholt habe ich gerade bei solchen Suden Keimwucherung beobachtet, die aus Milch mit sehr reichlichen Bakterien und 7—9 Säuregraden hergestellt waren.

Fortgesetzte Untersuchungen ließen erkennen, daß die geschilderte Hefegärung nicht die einzige Zersetzung der

gezuckerten kondensierten Milch darstellt, die zur Beobachtung kommen kann. Im Herbst 1918 wurden dem hygienischen Institut Dosen zugesandt, die eine geringe Auftreibung zeigten. Beim Oeffnen fand sich keine auffällige Abnormität; der Geschmack war nicht verändert, der Säuregehalt der übliche. Der Hefenährboden blieb steril, aber auf gewöhnlichem Nährsubstrat wuchsen zahlreiche Kokken und Sarcinen, namentlich erstere fast in Reinkultur. Nach 6 tägigem Aufenthalt im Brütofen nahm die Säuerung um nur 10 Prozent zu; die Kokken erschienen nicht vermehrt. Zu stärkerer Zersetzung kam es überhaupt nicht; auch die absichtlich noch längere Zeit bebrütete Milch wurde anstandslos genossen.

Im Laufe dieses Sommers wiederholte sich die beobachtete Erscheinung mehrfach. Bei einigen Suden wurden nach längerer Zeit zuweilen erst nach Monaten leicht aufgetriebene Dosen gefunden. Beim Oeffnen schien etwas Gas zu entweichen von sehr schwachem, aromatischem Geruch. Die Konsistenz der Milch war meist etwas ungleichmäßig, es fanden sich dickflüssigere neben dünnflüssigeren Teilen. Ein leichter Beigeschmack, den einige Beobachter als säuerlich bezeichneten, wurde beim Rohgenuß festgestellt, aber bei der üblichen Verwendung zu Tee und Kaffee nicht mehr bemerkt. Der Säuregrad hielt sich in den für das betreffende Präparat üblichen Grenzen; es handelte sich wiederum um eine Milch, die vor der Bearbeitung bereits den eigentlich zulässigen Säuregrad erreicht oder etwas überschritten hatte. Dieser höhere Säuregehalt war aber bei anderen Suden derselben Herkunft der gleiche, ohne daß aufgetriebene Dosen gefunden wurden.

Auf den Hefenährböden wuchsen in diesen Fällen keine oder spärliche Kolonien, so daß eine Wucherung von Hefen unbedingt nicht vorlag. Dagegen zeigten die gewöhnlichen Nährböden neben gelben Sarcinen sehr zahl-

reiche weiße Kokken in Reinkultur, in einer Oese etwa 40 000. Es handelte sich um kleine grampositive Staphylokokken, denen ein schwaches Säuerungsvermögen (in Rohrzuckerlösung in 48 Stunden bei 37 Grad etwa 7 Säuregrade) zukommt.

Auffällig war das verschiedene Verhalten der Dosen ein- und desselben Suds. Die einen zeigten keinerlei Abnormität, weder äußerlich noch nach dem Oeffnen, während bei anderen immer die gleichen Erscheinungen einer beginnenden leichten Gärung auftraten.

Längeres Stehen förderte die Zersetzung nicht. Es hat im Gegenteil den Anschein, als ob die Kokken, die als deren Ursache anzusehen sind, nach einigen Wochen ihre weitere Wucherung und Tätigkeit einstellen.

Eine Beanstandung dieser Präparate seitens der Konsumenten ist in keinem Falle erfolgt. Es geht aber aus unseren Beobachtungen mit Bestimmtheit hervor, daß neben den beschriebenen Hefen auch noch einige Bakterienarten imstande sind, in so starken Zuckerlösungen, wie sie diese Milchpräparate darstellen, zu wuchern und eine gewisse Gärung einzuleiten.

Hunziker sagt hierüber: „Zuweilen sind die Gärung veranlassenden Mikroben nicht Hefen, sondern hitzebeständige Bakterienarten, welche durch das Erhitzen der Milch nicht abgetötet werden. Die Verunreinigung damit geschieht im Gehöft. Zu diesen Mikroben gehören namentlich die Buttersäurebazillen, während die gewöhnlich gleichzeitig in die Milch gelangenden Fäulnisbakterien in der gezuckerten Milch nicht wachsen. In Betracht kommt als Infektionsquelle hauptsächlich der Heustaub und Staub von sonstigem Futter. Hauptsächlich erfolgt die Verunreinigung im Spätsommer und Herbst, wenn die Ernte eingebracht wird. Nicht selten sind es auch die Reste der Milch in den Pfannen, Röhren und sonstigen Utensilien, welche

diese Mikroben in Menge enthalten; nicht selten auch ein unreines Wasser, das für die Reinigung der Utensilien benutzt wird. Alle derartige Einsaat von Keimen muß vermieden werden."

Hunziker wirft hier zweierlei durcheinander. Zur Verhütung des Verderbs soll einmal die Einsaat der verschiedensten Keime auf dem Gehöft vermieden werden; und andererseits soll deren Abtötung durch Kochen das wesentliche Schutzmittel sein.

Eine Einsaat von Buttersäurebazillen und anderen verbreiteten Bakterien ist aber tatsächlich gar nicht zu vermeiden, und die Sporen gewisser Buttersäureerreger, der Heubazillen und sonstige gegen Erhitzung widerstandsfähige Mikroben werden mit jeder beliebigen Milch ungeschädigt in das Kondensat gelangen, so daß eigentlich fast immer mit derartigen überlebenden Mikroben gerechnet werden muß. Die genauere bakteriologische Untersuchung verschiedener durchaus normaler Dosen ergab mir (namentlich bei Verwendung von Zuckeragar-Gußplatten) in jedem Falle die Anwesenheit von bald mehr bald weniger Keimen ,etwa 10 bis 100 in der Oese, teils Kokken, Sarcinen, die nachträglicher Einsaat entstammen können, teils aber auch fast stets Heubazillen, die aus der Rohmilch herrühren. Demgemäß müßte eigentlich jede Kondensmilch dem Verderb ausgesetzt sein.

Ein Verderb des Präparats kann offenbar in zweierlei Weise herbeigeführt werden: Entweder kommen Keime in Betracht, welche der Rohmilch entstammen. Diese müssen dann aber zwei Bedingungen genügen, sie müssen einmal die Erhitzung überstehen, und zweitens in 50 prozentiger Zuckerlösung ausgiebig wachsen und Gärung veranlassen können. Dadurch, daß diese beiden Momente zusammenwirken müssen, sind viele Gärungserreger, z. B. die sämtlichen Milchsäurebazillen, ausge-

schlossen, weil sie die Erhitzung nicht überstehen, und von den wenigen Erregern, die ausreichend resistent sind, die meisten, weil sie nicht in konzentrierten Zuckerlösungen wachsen; dahin gehören z. B. die Buttersäure-, die Heubazillen, die thermophilen Streptokokken usw.

Von hitzebeständigen und gleichzeitig in 50 prozentigen Zuckerlösungen wucherungsfähigen Milchkeimen habe ich bisher nur die geschilderten Hefearten in größerer Zahl in verdorbener Milch feststellen können.

Oder eine andere Art von Verderb kommt zustande durch die mehrfach in größerer Zahl in den Präparaten gefundenen Staphylokokken. Diese haben sich als nicht hitzebeständig erwiesen und können daher nur nach dem Kondensieren in die Milch gelangt sein. Aus der ganzen Schar der gelegentlich in dieser Weise der gezuckerten Milch beigemengten Bakterienarten habe ich bisher nur die oben beschriebene Staphylokokkenart befähigt gefunden, in starker Zuckerlösung zu wuchern; dieser Bedingung wird von Bakterien offenbar nur ganz ausnahmsweise genügt. Die Wucherung solcher Kokken ist aber insofern von geringerer Bedeutung für die Gefährdung des Präparats, als sie eine intensive Gärung und eine stärkere, grobsinnlich wahrnehmbare Veränderung des Präparats nicht bewirken. Die Fähigkeit, bei mittlerer Temperatur in 50-prozentigen Rohrzuckerlösungen reichlich Gärprodukte zu liefern und dadurch ausgiebige Zersetzung hervorzurufen, ist eigentlich bisher nur bei der oben beschriebenen hitzebeständigen Hefe beobachtet.

Für die vorliegende Beobachtungsreihe ist es demnach von besonderer Wichtigkeit, für eine größere Zahl bekannter Bakterienarten zu ermitteln, inwiefern sie einmal durch Hitzeresistenz und zweitens durch Wachstumsbefähigung in konzentrierter Zuckerlösung für ein Wachstum in kon-

densierter Milch in Betracht kommen können. Insbesondere erschien es auch erwünscht, in dieser Beziehung die bekannten pathogenen Bakterien zu prüfen, um dadurch über die hygienische Bedeutung des gelegentlich in Milchpräparaten beobachteten Verderbs ein Urteil zu gewinnen.

Ueber die Temperaturresistenz verschiedener Bakterienarten liegen ausreichend frühere Feststellungen vor; ich habe diese nur in Bezug auf die oben geschilderten Hefe- und Kokkenarten ergänzt (s. Tabelle S. 26).

Ueber das Wachstum von Mikroben auf zuckerhaltigen Nährböden finden sich in der Literatur nur spärliche Angaben, zum mindesten, was die Bakterien anbetrifft, wogegen von Hefen bekannt ist (wie schon oben erwähnt), daß bei ihnen bis zu einem Zuckergehalt des Nährbodens von 60 Prozent noch Wachstum möglich ist (Kohl, Henneberg). Für Schimmelpilze hat Eschenhagen[1] einige Zahlen angegeben; danach hemmt bei diesen Zucker das Wachstum bei einer Konzentration von 51—55 Prozent; Aspergillus repens vermochte nach Klebs sogar noch bei Anwesenheit von 80 Prozent Rohrzucker zu gedeihen.

Für Bakterien wurde die Frage der Wachstumsmöglichkeit in Zuckerlösungen hauptsächlich im Zusammenhange mit der Behandlung infizierter Wunden mittels Rohrzucker studiert; hierbei ergab sich, daß diese Behandlungsweise im allgemeinen berechtigt war, da höher prozentige Rohrzuckerlösungen die Bakterienentwicklung hemmten; jedoch stellte Simonds in diesem Zusammenhange für einige Stämme von B. perfringens fest, daß diese noch auf Nährböden mit 40 Prozent Zuckergehalt sich entwickeln konnten, wenn sie durch anfängliche Züchtung bei niedriger Konzen-

1. Einfluss von Lösungen verschiedener Concentration usw. Leipzig Dissert. 1889.

Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Temperaturen.

Nr.		100—102°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°	48°
1	Streptokokkus lact. thermoph.		10—20″	30—60″	1—3′	5—10′	10—30′	30—60′	—	—	—
2	Tuberkelbazillen		—	5″	5″	10″	—	—	—	—	—
3	Staphylokokken		—	1—2″	3—5″	10—20″	30—60″	5—10′	10—20′	60—90′	—
4	Kolibazillen		—	—	2—3′	5—6″	45—60″	2—3′	15—20′	—	—
5	Aerogenes		—	—	1—3″	5—10″	30—60″	1—3′	10—15′	—	—
6	Streptococ. lact.		—	—	1—3″	5—10″	30—60″	1—2′	10—20′	—	—
7	Pseudodysenterie		—	—	1—3″	3—5″	5—10″	30—60″	5—10′	30—45′	—
8	Paratyphus B		—	—	0—1″	3—5″	10—30″	30—60″	3—5′	20—30′	—
9	Dysenterie		—	—	0—1″	1—3″	5—10″	1—3′	5—10′	30—45′	—
10	Typhus		—	—	0—1″	1—3″	10—20″	30—60″	3—5′	30—45′	—
11	Pneumokokken		—	—	0—1″	1—2″	5—10″	20—30″	3—5′	20—30′	—
12	Diphtherie		—	—	—	0—1″	3—5″	5—10″	30—60″	1—3′	—
13	Cholera		—	—	—		1—3″	5—10″	10—20″	45—60″	3—5′
14	Hefe feucht					60′	60—120′				
15	Kokken aus kond. Milch					0—1′					
16	Buttersäurebakterien mit Sporen	1—2′									

Nr. 1—13 nach Patzschke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81.
Nr. 14—15 eigene Versuche.
Nr. 16 Tjaden (Sommerfelds Handbuch der Milchkunde).

tration angepaßt worden waren. Für Staphylokokken fand Magnus, daß sie in Zuckerlösungen, in denen Streptokokken und Pyocyaneusbazillen nicht mehr vermehrungsfähig waren, noch nicht im Wachstum gehemmt wurden.

Daß ausnahmsweise Bakterien auch bei Zuckerkonzentrationen sich noch vermehren können, bei denen sonst nur Schimmelpilze fortkommen können, dafür findet sich in der Literatur als Beispiel das Bakterium vernicosum Zopfs, das noch bei Anwesenheit von 70 Prozent Zucker vermehrungsfähig war.

Es lohnte sich also, einmal im Zusammenhange festzustellen, bei welchen Zuckerkonzentrationen bei verschiedenen Keimen noch Wachstum möglich sei.

Meine Untersuchungen wurden angestellt mit zuckerhaltigem Nähragar und zuckerhaltiger Nährbouillon. Bei der Herstellung der Nährböden mußte, um den Gehalt an Rohrzucker konstant zu erhalten, darauf geachtet werden, beim Sterilisieren eine Karamelisierung des Rohzuckers zu vermeiden; ein Punkt, auf den schon Segin in seiner Arbeit über Einwirkung von Bakterien auf verschiedene Zuckerarten usw. aufmerksam gemacht hatte. Es wurde daher grundsätzlich die Benutzung des Autoklaven vermieden und dafür die fraktionierte Sterilisation im Kochschen Dampftopf angewandt. Die Versuchsergebnisse wiesen bei Benutzung von zuckerhaltigem Agar und zuckerhaltiger Bouillon weitgehende Uebereinstimmung auf. Die Arten, auf die sich die Untersuchung erstreckte, und die Ergebnisse, sind in nachstehender Tabelle aufgeführt (S. 28).

Die Tabelle (S. 28) läßt für die einzelnen Keimarten folgende Unterschiede erkennen: 1. für die nicht zur Klasse der Bakterien gehörenden Keime (Hefen und Schimmelpilze) eine verhältnismäßig hohe, für die Bakterien im allgemeinen eine entsprechend niedrigere Widerstandsfähigkeit gegen Rohrzucker. Unter den Bakterien wiederum

Untersuchte Keimart	Wachstum bei einem Zuckergehalt von											
	20 %	25 %	33 %	40 %	42 %	45 %	50 %	56 %	60 %	70 %	80 %	90 %
Cokkus aus cond. Milch			+		+		+		+			
Staphylocokkus pyog. aur.		+	+	+	+	+	+	+	+			
Hefe feucht					+		+	+	+			
Torula alba					+		+					
Hefe rosa					+		+					
Hefe weiß					+		+					
Asperpillus fumigatus					+		+					
Baz. butyrius (Henneberg)							-					
Pseudo Diphth. B.		+	–	+	+	+	–	–				
Diphtherie B.		–	+		+	–						
Streptocokkus	+	+	+		+	–						
Tetragenus	+		+		+		–					
Sarcine	+		+		+		–					
B. megatherium	+		+		+		–					
Sarcine aus kond. Milch (Dose 126)					–				–			
Paratyphus B	+	+	+	+		–	–					
Typhus	–	+	+	–		–						
Coli	+	+	+	–	–	–						
Paratyphus A		+	+	–		–						
Dysenterie Flexner	+	+	+	–	–	–						
Dysenterie Y		+	+			–						
Dysenterie Kruse	+	+	+	–	–	–						
B. subtilis	+		+		–		–					
B. Friedländer	+		+		–		-					
Cholera	+	+	–	–	–	–						

zeigen eine deutlich höhere Resistenz die Kokken, ferner Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen und B. megatherium, eine geringere die Coli-, Typhus- und Paratyphusgruppe und die Ruhrbazillen, ferner Subtilis und Friedländerbazillen. Am geringsten ist die Zuckerresistenz bei Choleravibrionen.

Mit den angeführten spärlichen Literaturangaben stehen die so gewonnenen Ergebnisse durchaus im Einklang, abgesehen von dem bereits erwähnten B. vernicosum Zopfs, dessen Wachstum ja bei 70 Prozent Zucker noch nicht gehemmt wurde, eine Widerstandsfähigkeit, zu der entsprechende Beobachtungen nicht gemacht wurden. Dagegen sehen wir deutlich die angeführten Angaben über Wachstumsmöglichkeit von Hefen und Schimmelpilzen und ebenso die von Magnus betonte Widerstandsfähigkeit des Staphylokokkus aureus bestätigt. Die von Simonds gemachten Angaben über Widerstandsfähigkeit des B. perfringens werden uns um so wahrscheinlicher, als wir in den eigenen Versuchen mehrere analoge Fälle von Bakterienwachstum sahen.

Jedoch nicht nur zwischen den in der Literatur gemachten Angaben über Wachstum auf zuckerhaltigen Nährböden und vorstehenden Versuchsergebnissen bestehen Beziehungen, auch mit anderen, das Wachstum von Mikroorganismen hemmenden Eigenschaften des Nährbodens lohnt es sich, Vergleiche anzustellen. In Betracht kommt hier hauptsächlich hohe Dichte (Konzentration) des Nährbodens, die einmal durch Wasserentziehung (Trocknung), dann aber auch durch Zusatz anderer wasserlöslicher Substanzen als Zucker, z. B. von Salzen hervorgerufen werden kann.

Vergleichen wir zunächst die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Keime gegen Zucker mit der gegen Trockenheit des Nährbodens und gegen Kochsalz, so ergeben sich da

eine Reihe bemerkenswerter Uebereinstimmungen. So z. B. für den Staphylokokkus aureus, der uns unter den Bakterien durch seine besonders hohe Widerstandsfähigkeit gegen Zucker aufgefallen war. Dieser läßt auch gegen Austrocknung und gegen Kochsalzgehalt eine auffallend hohe Widerstandsfähigkeit erkennen; die erstere Eigenschaft zeigte sich in von L. Wolf angestellten Versuchen. Dieser Untersucher stellte durch Trocknung von Gelatine und nachheriges Hinzufügen bekannter Mengen Wassers Nährböden von genau bekanntem Wassergehalt her und stellte fest, daß, während die Grenze für das Wachstum von Bakterien sonst im allgemeinen zwischen 50—60 Prozent Trockensubstanz lag, farbstoffbildende Arten, darunter Staphylokokkus aureus, noch deutlich oberhalb der angegebenen Grenze gedeihen konnten. Hohe Widerstandsfähigkeit des Staphylokokkus aureus gegen Kochsalzgehalt des Nährbodens trat auch bei Versuchen von Guillemard in Erscheinung, in denen die eben noch Wachstum gestattende Konzentration für diese Keime mit etwa 17 Prozent Kochsalz die für die übrigen Bakterien (Typhus, Paratyphus, Coli, Friedländerbaz.) geltende Konzentration von etwa 7 Prozent bei weitem übertraf.

Geht so die hohe Widerstandsfähigkeit des Staphylokokkus aureus gegen Zucker mit derjenigen gegen andere Erhöhungen der Konzentration des Nährbodens parallel, so finden wir ähnliche Analogien auch für die Kokken im allgemeinen. Ebenso wie diese sich in meinen Versuchen den Stäbchen in ihrer Resistenz gegen Zucker überlegen zeigten, konnte auch in Versuchen, die Petterson zur Prüfung der Entwicklungshemmung durch Kochsalzlösungen mit Kokken und Stäbchen anstellte, bei den Kokken erst eine deutlich höhere Konzentration (20 Prozent) das Wachstum hemmen als bei den Stäbchen (15 Prozent), eine Verschiedenheit, die Petterson für grundsätzlich zwischen

Stäbchen und Kokken in bezug auf deren Empfindlichkeit gegen Kochsalz ansieht. — Ebenso wie mit der hohen Resistenz der Kokken verhält es sich auch mit der besonders geringen der Cholerabazillen, bei der sich gleichfalls ein Parallelismus zwischen dem Verhalten gegen Zucker und gegen Kochsalz feststellen läßt; so konnten Forster und De Freytag für den Choleravibrio eine im Vergleich zu den meisten anderen Bakterien auffallend geringe Widerstandsfähigkeit gegen Kochsalz feststellen.

Coli-, Typhus-, Paratyphus- sowie Friedländerbazillen zeigen wie schon erwähnt auch auf kochsalzhaltigen Nährböden eine etwa gleich große mittlere Resistenz (Guillemard), während ich für Diphtherie und Pseudodiphtheriebaz., die sich durch hohe Resistenz gegen Zucker auszeichneten, keine Angaben über das Verhalten gegenüber dem Kochsalz finden konnte.

Die im Vorstehenden aufgeführten Analogien zwischen dem Keimwachstum auf stark zucker- und kochsalzhaltigen Nährböden lassen eine gemeinsame Ursache für die Wachstumshemmung vermuten. Am nächsten liegt es, zur Erklärung dieser Uebereinstimmung diejenige Eigenschaft konzentrierter Lösungen heranzuziehen, die auch sonst durch ihre Wirkung auf pflanzliche und tierische Zellen in Erscheinung tritt, nämlich den osmotischen Druck. Dieser wurde auch — was salzhaltige Nährböden anbetrifft — von Guillemard als Ursache für die Wachstumshemmung angenommen. Für den osmotischen Druck gilt das bekannte, der Avogadroschen Regel entsprechende Gesetz „Aequimolekulare Mengen verschiedener Stoffe im gleichen Volumen der Lösungen üben bei gleicher Temperatur den gleichen osmotischen Druck aus." Guillemard fand, daß für NaCl und $(NH_4)_2\ SO_4$ die Zahl der im Liter gelösten Gramm-Moleküle für die Grenzkonzentrationen, bei denen eben noch Keimvermehrung stattfindet, maßgebend ist.

Ebenso konnte Lewandowsky auf Grund von Versuchen feststellen, daß äquimolekulare Lösungen, und zwar von NaCl und KCl, annähernd gleich wirken. Daß nicht der Sättigungsgrad der Lösung an sich es ist, der für die Hemmung des Bakterienwachstums maßgebend ist, sondern deren Gehalt an Grammolekülen des gelösten Stoffes, zeigte er an einer gesättigten Lösung von Kaliumnitrat, in der eine üppige Entwicklung von Bakterien stattfand; diese Erscheinung erklärt sich daraus, daß dies Salz wegen seiner geringen Löslichkeit nicht in einer genügend hohen molekularen Konzentration zur Anwendung gelangen kann, um Keimvermehrung zu verhindern. Berücksichtigt werden muß hierbei allerdings, worauf Guillemard ausdrücklich hinweist, daß man in diesem Zusammenhange nur Stoffe mit nicht zu hoher elektrolytischer Dissoziation mit einander vergleichen kann; für stark dissoziierte Körper erhält man auch stark abweichende Zahlen.

Wenn es nun richtig ist, daß die Anzahl der in einer Lösung enthaltenen Mole in wesentlichem Zusammenhange steht mit der Hemmung des Bakterienwachstums, so ist von vornherein für den Rohrzucker, der das Molekulargewicht 342 hat, die Auflösung einer verhältnismäßig großen Gewichtsmenge im Liter der Nährlösung zu erwarten. Diese Erwartung wird durch meine Versuche vollauf bestätigt. Die zur Herstellung der Grenzkonzentrationen verwandten Mengen Rohrzucker sind um ein vielfaches größer, als die dazu erforderlichen Mengen Kochsalz; die molekulare Konzentration entspricht ziemlich genau der von Guillemard für Kochsalz und Ammoniumsulfat gefundenen. Diese bertrug für Coli, Typhus und Paratyphus A u. B 1, bis 1,3, für Staphylokokkus aureus bis 3,5 Mol. Nach meinen Versuchen wurden Coli, Typhus und Paratyphusbazillen innerhalb der Grenzen einer Konzentration von 500 bis 670 Gramm Rohrzucker zum Liter Wasser, d. h. von 1,5 bis 2,0

Mol. im Wachstum gehemmt, Staphylokokkus aureus sogar erst bei einer Konzentration von über 4 Mol.

Die für Rohrzucker gefundenen etwas höheren Zahlen werden wahrscheinlich damit zusammenhängen, daß dieser Körper in Lösung gar nicht dissoziiert ist, was jedoch bei den beiden zum Vergleich herangezogenen Salzen der Fall ist. Es scheint demnach durch meine Versuche bestätigt zu sein, daß der osmotische Druck bei der Hemmung des Bakteriumwachstums eine führende Rolle spielt.

Aus vorstehenden Untersuchungen ergibt sich für das bakteriologische Verhalten der gezuckerten kondensierten Milch und für die hygienische Bedeutung eines Verderbs derselben folgendes:

Jede derartige Milch enthält lebende Keime. Zunächst solche, die in der Milch vor ihrer Verarbeitung enthalten und der Abtötung durch das Kochen und Eindicken entgangen sind. Dahin gehören z. B. Heubazillensporen und Hefesporen. Pathogene Keime finden sich unter diesen nicht; nur Milzbrandsporen könnten vielleicht die Erhitzung überstehen, kommen aber praktisch nicht in Frage.

Zweitens kommt eine Einsaat von Keimen, auch wenig widerstandsfähiger, in Betracht nach Fertigstellung des Kondensats durch zufällige Verunreinigungen der Kühlbehälter, aus den leeren Dosen, aus der Luft der Arbeitsräume, durch die Hände und Hustenstöße der Arbeiter usw. Daß unter diesen Keimen pathogene sich finden, ist kaum anzunehmen; da sie in dem Präparat sich nicht vermehren können, bleiben sie unter allen Umständen so vereinzelt, daß ihre Ausstreuung auf allerlei anderen Wegen sich jedenfalls leichter vollzieht. — Verderb auslösende Gärungserreger, insbesondere die gezuckerte Milch vergärende

Hefen haben sich bei der sorgfältigen Untersuchung einer Fabrikanlage mit besonderem für diese Hefen geeigneten Nährboden an keinem der in Betracht kommenden Gebrauchsgegenstände gefunden; sie sind aber selbstverständlich an anderen Orten und zu anderer Zeit nicht völlig auszuschließen.

Ob von den aus der angelieferten Milch stammenden hitzeresistenten bzw. von den in das fertige Präparat gelangenden Keimen Zersetzung oder Vergärung des Kondensats ausgeht, das hängt von ihrer Wachstumsbefähigung in mehr als 50 prozentiger Zuckerlösung ab. Hierfür geeignet zeigten sich bisher nur einige Hefearten und Kokken; für stärkere Gärung sogar n u r Hefen.

Auf Grund dieser Erkenntnis lassen sich Grundsätze für die B e k ä m p f u n g des Verderbs solcher Präparate aufstellen. Man könnte zunächst daran denken, den Keimgehalt der zu verarbeitenden rohen Milch herabzusetzen. Unbedingt sollte angestrebt werden, die Milch im Gehöft möglichst reinlich zu behandeln und die Inkubationszeit bis zur Verarbeitung abzukürzen, damit weder ein Säuregehalt von mehr als 3 bis 4 Grad noch ein erheblicherer Labgehalt hergestellt wird. Ferner ist der Einsaat von Keimen nach der Kondensation sorgfältig durch Reinigung und Desinfektion entgegenzuarbeiten.

Aber man darf nie erwarten, damit die Gefahr des Verderbs vollkommen beseitigt zu haben. Namentlich wird man nie hindern können, daß trotz aller Vorsichtsmaßregeln auch Keime bedenklicher Art in der angelieferten Milch vorhanden sind.

Das wichtigste Mittel zur Verhütung des Verderbs ist daher die möglichst hohe und lange Erhitzung der Milch, so daß zwar nicht a l l e Keime, insbesondere nicht die Sporen der Heubazillen, aber doch die für die Vergärung der gezuckerten Milch in Frage kommenden Keime, sicher ab-

getötet werden. In dieser Beziehung weichen die einzelnen Kondensierapparate anscheinend stark voneinander ab, und Zeitdauer und Grad der Erhitzung schwanken je nach der Handhabung bei den einzelnen Suden.

Nach dem Bericht einer derartigen Fabrik war z. B. der Betrieb dort so eingerichtet, daß das Einziehen der Milch in den Kochkessel 2 bis 3 Stunden dauerte; in diesem wurde auf 75 Grad erhitzt; aus dem Kochkessel gelangte die Milch in den Vacuumraum, wo die Temperatur auf 65 Grad herunterging; 4 Stunden nach Beginn des Einziehens wurde mit der Kühlung begonnen, und nach weiteren zirka 3 Stunden war das Kondensat auf 14 Grad abgekühlt. Diese Zahlen variieren aber je nach der Menge Milch, die zu verarbeiten ist. Vor allem steht nicht genügend fest, daß auch die zuletzt eingezogenen Teile Milch immer ausreichend lange im Kochkessel auf 75 Grad durchhitzt werden, und eine größere Sicherheit, daß die gesamte Milch der Höchsttemperatur eine bestimmte Zeit hindurch ausgesetzt wird, wäre wohl erwünscht.

Immerhin wird bei der doch mehr als eine Stunde dauernden Einwirkung einer Wärme von 65 bis 75 Grad voraussichtlich eine ausreichende Wirkung erzielt werden, wenn nur auf langsames Einziehen und tunlichst langes Verweilen der Milch bei der höchsten Temperatur Bedacht genommen wird. Namentlich wird vom Frühjahr ab und während der wärmeren Jahreszeit, wo die besonders gefährlichen Hefen vermehrt auftreten, auf eine möglichst ausgedehnte Durchhitzung Bedacht zu nehmen sein; ebenso da, wo mit ungünstigen Inkubationsverhältnissen der angelieferten Milch gerechnet werden muß. — Es dürfte jetzt, nachdem festgestellt ist, welche Keimarten den Verderb von gezuckerter Milch veranlassen, und welcher Temperatur und Zeitdauer diese zu völliger Abtötung bedürfen, an der Zeit sein, die zum Kondensieren benutzten Apparate

einer Revision zu unterziehen und nur solche zu benutzen, die ein Verweilen aller Milchteile bei der Maximaltemperatur während einer bestimmten Zeitdauer gewährleisten. Auch zum Pasteurisieren der Milch werden jetzt allgemein Apparate mit gezwungener Führung benutzt, welche die Sicherheit bieten, daß jedes Milchteilchen eine bestimmte Zeit auf der Maximaltemperatur verweilt; nur dadurch ist die Abtötung der gewöhnlichen Gärungserreger und der pathogenen Keime einschließlich der Tuberkelbazillen durch Pasteurisieren gesichert.

Demnächst wird die nachträgliche Einsaat von Keimen in das fertige Kondensat verhütet werden müssen, und zwar durch peinlichste Reinlichkeit und häufigeres Desinfizieren aller mit dem Kondensat in Berührung kommenden Gebrauchsgegenstände mittels heißer Sodalösung und darauf Wasserstoffsuperoxyd. Auch bei dieser nachträglichen Einsaat werden nicht alle Keime die Gefahr eines Verderbs heraufbeschwören, sondern nur solche, welche in 50 prozentigen Zuckerlösungen Wucherung und Zersetzung bewirken können; und die Zahl dieser Arten scheint glücklicherweise nicht groß zu sein.

Um zum Schluß noch einmal auf die Gesundheitsschädigung zurückzukommen, die möglicherweise durch den Genuß verdorbener kondensierter Milch entstehen könnte, so dürfen wir aus vorstehenden Untersuchungen die beruhigende Folgerung ziehen, daß Krankheitserreger aus der Milch schon durch deren jetzt übliche Erhitzung abgetötet werden und daß sie außerdem sämtlich einer Wucherung in der gezuckerten kondensierten Milch nicht fähig sind. Höchstens könnte man daran denken, daß die vergorene Milch und insbesondere größere Mengen lebender Hefen im Darmkanal zu Störungen Anlaß geben könnten. Dem ist aber entgegenzuhalten, daß die in Betracht kommenden Gärungserreger nachweislich in Milch

und namentlich in Butter sehr reichlich vorkommen und zweifellos massenhaft genossen werden, ohne daß jemals auffällige Folgen beobachtet sind.

In Anbetracht der hygienischen Bedeutungslosigkeit des beobachteten Verderbs werden Warnungen vor dem Genuß abnormer kondensierter gezuckerter Milch nicht erforderlich sein. Beruht die Gärung auf Hefen und ist sie weiter vorgeschritten, so ist schon der Verkauf solcher Dosen unmöglich; liegen aber nur leichte Veränderungen vor, die nicht sinnfällig sind, so darf das Präparat unbesorgt verbraucht werden. — Die in den letzten Jahren gemachten vereinzelten ungünstigen Erfahrungen mit gezuckerter Kondensmilch sind daher nicht geeignet, die Vorzüge dieses Milchpräparats geringer zu veranschlagen. Diese bestehen bekanntlich darin, daß die nährenden Bestandteile der Milch auf kleinen Raum zusammengedrängt sind; und der dadurch bedingte Vorteil muß zu einer Zeit, wo die Schwierigkeiten des Transports ungewöhnlich hohe sind, besonders ins Gewicht fallen. Außerdem ist, wie Petri und Maaßen betonen, eine Milch, die sich sowohl in verschlossenen, wie in geöffneten Dosen auf Wochen und Monate hält, überall da erwünscht, wo es nicht möglich ist, jederzeit frische Milch zu beschaffen, z. B. zur Versorgung des reisenden Publikums, in Krankenanstalten, Asylen, kurz überall da, wo eine größere Anzahl von Menschen in eine gewisse Unabhängigkeit vom Milchproduzenten gebracht werden soll. Auch im Felde bewährte sich kondensierte Milch vorzüglich, z. B. bei den amerikanischen Expeditionstruppen in Frankreich, wovon ich mich persönlich überzeugen konnte. — Bei unseren jetzigen unseligen Wirtschaftsverhältnissen, wo die Beschaffung von frischer Milch noch auf Jahre hinaus mit großen Schwierigkeiten verbunden sein wird, muß mit einer teilweisen Belieferung der Bevölkerung mit gezuckerter kondensierter Milch auch weiter-

hin gerechnet werden; und dazu ist dies Präparat auch geeignet, trotzdem es gelegentlich von Keimwucherung und Zersetzung betroffen wird.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Geheimrat Flügge und Herrn Professor Heymann für die mir bei der Anfertigung vorstehender Arbeit gewährte weitgehende Unterstützung auch an dieser Stelle meinen angelegentlichsten Dank auszusprechen.

Literatur

De Freytag, Ueber die Einwirkung konzentrierter Salzlösungen auf das Leben von Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. 11. 1890.)

Guillemard, A. Diversité des résistances des bacteries à la pression osmotique (Compte rendu de la société de biologie, t 67 1909).

Henneberg, Gärungsbakteriologisches Praktikum, Berlin 1909.

Hunziker, O. F. Condensed Milk and Milk Powder, La Fayette, Indiana, 1914.

Kirchner, W., Handbuch der Milchwirtschaft V. Auflage, 1907.

Kohl, Die Hefepilze, Leipzig 1908.

Kruse, W. Allgemeine Mikrobiologie, Leipzig 1910.

Lafar, F. Handbuch der technischen Mykologie, Jena 1905—08.

Lewandowsky, F. Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration (Arch. f. Hyg. Bd. 49.)

Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, 4. Aufl. 1905.

Magnus, G., Wundbehandlung mit Zucker (Münch. med. Wochenschrift 1913).

Patzschke, W., Ueber die Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegenüber hohen Temperaturen u. s. w. (Ztschr. f. Hyg., Bd. 81, 1916).

Segin, A., Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten (Zentrbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903).

Simonds, J. P., propos de l'emploi du ducre dans le traitement des plaies infectées par le Bacillus perfringens. (Compte rendu de la société de biologie, t. 79, 1916).

Tjaden, H., Sterilisierung und Pasteurisierung (in Sommerfelds Handbuch der Milchkunde, Wiesbaden 1909).

Wolf, L., Ueber den Einfluß des Wassergehaltes der Nährböden auf das Wachstum der Bakterien (Arch. f. Hyg., Bd. 34, 1899).

Lebenslauf

Als Sohn des Frauenarztes Dr. R. Schaeffer wurde ich am 1. März 1892 in Berlin geboren. Ich besuchte daselbst das Wilhelmsgymnasium bis Ostern 1910 und verließ es mit dem Zeugnis der Reife. Als Student der Medizin besuchte ich sodann die Universität Tübingen bis Michaelis 1911. Von da an bis zum Kriegsausbruch studierte ich in Berlin und legte im Juli 1912 die ärztliche Vorprüfung ab. Am 8. August 1914 trat ich als Kriegsfreiwilliger beim 4. Garde-Feldartillerie-Regiment in Potsdam ein und wurde im Januar 1915 als Feldunterarzt zur Kriegslazarettabteilung 130 versetzt, der ich bis zum März des Jahres 1918 angehörte. Am 27. November 1915 legte ich die ärztliche Prüfung ab, zu welchem Zweck ich nach Berlin beurlaubt war. Am 19. 5. 1916 erhielt ich die Approbation als Arzt und wurde im Anschluß daran zum Assistenzarzt d. R. befördert. Im März 1918 wurde ich als Bataillonsarzt zum Infanterieregiment 174 versetzt, mit dem ich an den Schlachten um den Kemmel und im St. Mihiel-Bogen teilnahm. Am 1. 11. 1918 geriet ich in amerikanische Gefangenschaft, aus der ich Ende März 1919 zurückkehrte. Seit dem 1. April 1919 bin ich als Assistent am Hygienischen Institut der Universität Berlin tätig.